

ESTUDO DO EFEITO DA APLICAÇÃO ENZIMÁTICA NO RETARDAR DO ENVELHECIMENTO DO PAPEL

Ana Lourenço*, Jorge Gominho, Maria Costa Ferreira, Helena Pereira

Centro de Estudos Florestais, Instituto Superior de Agronomia, Universidade Técnica de Lisboa,
1349-017 LISBOA

Resumo. O presente trabalho pretende averiguar o efeito e um tratamento enzimático no retardar do envelhecimento do papel através da aplicação de uma formulação enzimática contendo laccase e um mediador redox, na produção de folhas de papel. Foram produzidas folhas com gramagem de 60 g/m² a partir de duas pastas industriais diferentes (pasta de eucalipto branqueada e pasta de papel reciclado). As folhas foram sujeitas a uma sequência de envelhecimento em três câmaras: radiação ultravioleta (comprimento de onda de 280 nm), temperatura (19 °C) e humidade relativa (70 %); nevoeiro salino (concentração salina de 1% e temperatura de 35 °C). Para avaliar qual o efeito da variação da humidade e da temperatura, ensaiaram-se dois processos de envelhecimento: no primeiro, fez-se variar a humidade relativa (60, 80 e 100 %), mantendo a temperatura constante (25 °C); no segundo, variou-se a temperatura (60, 70 e 80 °C) e a humidade relativa manteve-se constante (50 %). No final, as folhas foram sujeitas a testes químicos (viscosidade e índice Kappa) e a testes físico-mecânicos (índice de tracção, alongamento e índice de rebentamento). Nas condições de envelhecimento simuladas, a exposição à radiação ultravioleta foi a que maior amarelecimento originou, efeito principalmente visível na pasta de papel reciclado. A aplicação da enzima (DENILITE IIS, mistura de Laccase, tampão e mediador) mostrou ser eficiente no retardar do envelhecimento em casos pontuais, nomeadamente na pasta de papel reciclado.

Introdução

A cor amarela no papel é considerada uma característica indesejável e o amarelecimento é muitas vezes visto como um dos primeiros sinais do envelhecimento e deterioração do papel. O amarelecimento do papel pode ser atribuído à presença de grupos cromóforos que se encontram em alguns produtos formados pela degradação de um ou mais componentes químicos do papel (Carter, 1996). Os cromóforos são grupos funcionais que conferem cor às substâncias por serem capazes de absorver radiação ultravioleta ou visível (Danilas, 1988).

O papel é um interlaçado de fibras, constituído quimicamente por celulose, hemiceluloses, lenhina e materiais estranhos à madeira, como aditivos, cola, gomas e pigmentos. A extensão da coloração do papel com a idade vai depender da percentagem dos seus constituintes. Assim, por exemplo, as pastas que contenham elevada quantidade de lenhina e hemiceluloses tendem a amarelecer mais rapidamente (Carter, 1996).

A coloração do papel é iniciada pela oxidação ou foto-oxidação, um processo que ocorre após a absorção da luz pelos grupos cromóforos dos componentes do papel (Durovié, 1993). Estas reacções podem formar novos grupos funcionais que se comportam como centros de absorção, aumentando assim o amarelecimento do papel (Carter, 1996). O mecanismo para o foto-amarelecimento de papéis contendo lenhina pode ser sumariamente descrito como se segue. O cromóforo primário de lenhina absorve perto da luz ultravioleta (300-400 nm); o efeito desta radiação é romper algumas ligações da lenhina e produzir radicais livres. Estes vão reagir com a lenhina originando radicais fenoxi e radicais cetil. Estes últimos quebram-se e formam novos radicais fenoxi e cetonas (que irão funcionar como cromóforos secundários). Os radicais fenoxi são oxidados pelo oxigénio atmosférico formando quinonas que funcionam também como cromóforos secundários. Estes podem absorver luz, e como tal, a foto-degradação da lenhina e o amarelecimento do papel continuam (Carter, 1996). A investigação centra-se actualmente na inibição do amarelecimento do papel em pastas de alto rendimento

(geralmente pastas mecânicas), para torná-las mais comerciais. Outra preocupação é a de substituir os processos de branqueamento químico por processos bioquímicos, recorrendo à biotecnologia.

Neste trabalho, o objectivo principal foi averiguar a capacidade do sistema enzimático disponível (DENILITE IIS, mistura de Laccase, tampão e mediador) para retardar o envelhecimento induzido pelas várias condições às quais as folhas de papel foram sujeitas. A enzima usada foi a laccase (benzenediol:oxigénio oxidoreductase; p-difenol oxidase, urishiol oxidase, EC 1.10.3.2), isto é, uma polifenol oxidase pertencente à família das oxidases que contêm cobre que catalisa a oxidação de uma variedade de compostos orgânicos e aromáticos, particularmente fenóis (Patente PCT/DK98/00067).

Material e Métodos

Foram usadas neste trabalho dois tipos de pastas: pasta de eucalipto branqueada (EB) e pasta de papel reciclado (R). A primeira foi produzida pela Portucel Setúbal e a de papel reciclado pela Renova S.A. Com estas pastas foram produzidas folhas laboratoriais, com e sem tratamento enzimático, com uma gramagem de 60 g.m⁻². O tratamento enzimático consistiu na adição de 10 g de enzima a uma solução de 24 g de pasta em 3 l de água, com pH 4,5, à temperatura de 60 °C durante 14 h, sob agitação. Depois do tempo referido, a pasta foi lavada para remover a enzima, procedendo-se à formação de folhas. Antes da produção das folhas sem tratamento analisaram-se as pastas no microscópio óptico para caracterização biométrica. O número de fibras medidas para a caracterização do comprimento foi 200, sem desprezar as fibras partidas, de modo a caracterizar a pasta em estudo. A observação microscópica e a medição do comprimento das fibras foi efectuada num analisador de imagem semi - automático, LEITZ Dialux 20 EB, usando as objectivas 4x, 10x e 20x.

As folhas estiveram sujeitas a três tipos de envelhecimento: o primeiro (designado por ensaio 3) englobou tratamento em três câmaras (câmara de radiação ultravioleta, de humidade e temperatura e de nevoeiro salino), transitando as folhas de câmara para câmara ao fim de duas semanas de exposição; o segundo foi realizado numa câmara de humidade e temperatura mas as condições de envelhecimento foram de variação de humidade (ensaio 1), mantendo constante a temperatura; e no terceiro manteve-se constante a humidade relativa fazendo variar a temperatura (ensaio 2). Na Figura 1 podem ver-se as folhas nas várias câmaras onde decorreu o envelhecimento.

A cor das folhas foi medida num espectrofotómetro de cor, 0°/d SCI, segundo a Norma ISO 2470:1999 (E). A fonte de iluminação usada foi a D65, que corresponde à luz do dia mas com uma maior proporção de radiação ultravioleta, e o comprimento de onda variou de 360 nm a 740 nm. Os parâmetros medidos para determinar a cor do papel foram *L*, *a*, *b*, pertencentes à escala CIE. O valor de *L* é designado por luminosidade; um valor de *L* de 100 % corresponde ao branco perfeito enquanto que o 0 % é o preto. O valor de *a* representa uma coordenada do plano cromático, que define o desvio da luminosidade (*L*) ao ponto cromático; varia entre o vermelho e o verde. O *b* representa o mesmo que o *a*, mas varia desde o amarelo até ao azul (Soler e Colom, 1999).

Para cada folha mediu-se o amarelecimento segundo a Norma DIN 6167 e o grau de brancura segundo a Norma TAPPI 452 om-92. Nos ensaios químicos determinaram-se a viscosidade e o índice Kappa. A primeira indica o grau de degradação da celulose (Norma SCAN-CM 15:88) e o índice Kappa indica a capacidade de branqueamento ou grau de deslenhificação das pastas ou do papel (Norma TAPPI UM 246).



Figura 1. Amostras de folhas de papel dentro da câmara de radiação ultravioleta (A), dentro da câmara de humidade e temperatura (B), da câmara de nevoeiro salino (C), e na câmara de humidade e temperatura (D) em condições variáveis de temperatura e humidade.

No Quadro 1 encontram-se os ensaios a que as folhas produzidas foram sujeitas.

Quadro 1. Condições de envelhecimento às quais as folhas de papel foram sujeitas e os ensaios que foram realizados. E – Folhas produzidas a partir de pasta de eucalipto; R – Folhas produzidas a partir de pasta de papel reciclado.

Envelhecimento			Material	Ensaio Ópticos, Químicos e Físico -mecânicos
Aparelho	Condições do aparelho	Tempo		
Câmara de radiação ultra violeta	Irradiância = 550 W.m ⁻² Temperatura = 55 °C	2 semanas	Folhas E Folhas R	Cor Grau de brancura Viscosidade
Câmara de humidade relativa e temperatura	Temperatura = 19 °C Humidade relativa = 70 %	2 semanas	Folhas E Folhas R Folhas testemunha	Cor Grau de brancura
Nevoeiro salino	Pressão = 1 bar Fluxo máx. de sal = 10 ml.min Temperatura = 35 °C durante 6 min Sem adição de sal mas com as mesmas condições durante 60 min Purga durante 15 min	48 horas	Folhas E Folhas testemunha	Cor Grau de brancura Viscosidade Índice Kappa
Câmara de humidade relativa e temperatura	Temperatura = 25 °C Humidade relativa = 60, 80 e 100 %	2 semanas	Folhas E Folhas R	Cor Grau de brancura Viscosidade Índice Kappa Ensaio físico-mecânicos
	Temperatura = 60, 70 e 80 °C Humidade relativa = 50 %	2 semanas	Folhas E Folhas R	Cor Viscosidade Índice Kappa Ensaio físico-mecânicos

Nos ensaios físico-mecânicos, determinaram-se os índices de tracção e rebentamento. O índice de tracção (Norma TAPPI os – 76) determina a força unitária necessária para a rotura do papel e o alongamento (expresso em %) que o mesmo sofre antes da rotura. Foram feitas, para cada tipo de folha em estudo, quatro repetições para determinação destas propriedades físico – mecânicas. O índice de rebentamento foi realizado segundo a Norma TAPPI 403 om-91 e mede o valor da resistência do papel ao rebentamento dividido pela gramagem do papel,

de forma a eliminar o efeito da massa. O número de ensaios realizados foi de seis em cada tipo de folha em estudo.

Resultados e Discussão

Na Figura 2 podem ver-se os elementos fibrosos presentes na pasta de eucalipto (EB1 e EB2) e as fibras de pasta de papel reciclado (R1 e R2) encontradas aquando da caracterização biométrica das pastas.

A pasta de eucalipto branqueada revelou ser constituída por elementos fibrosos com um comprimento médio de 306 μm e o papel reciclado apresentou um comprimento médio de 574 μm (Quadro 2). Verificou-se uma grande variabilidade de comprimentos desde pequenos fragmentos celulares inferiores a 100 μm até cerca de 3000 μm . A variabilidade de comprimentos foi mais elevada na pasta de eucalipto, como se pode observar pelo coeficiente de variação de 114%. No entanto, a pasta de papel reciclado apresenta uma maior amplitude no comprimento das fibras devido à presença de elementos fibrosos provenientes de pasta de resinosas.

Quadro 2. Comprimentos dos elementos fibrosos (μm) constituintes das pastas de eucalipto branqueada e papel reciclado.

Pastas	Média	Desvio Padrão	Coefficiente de Variação (%)	Máximo	Mínimo
Eucalipto	306	349	114	1519	25
Papel reciclado	574	512	89	2977	30

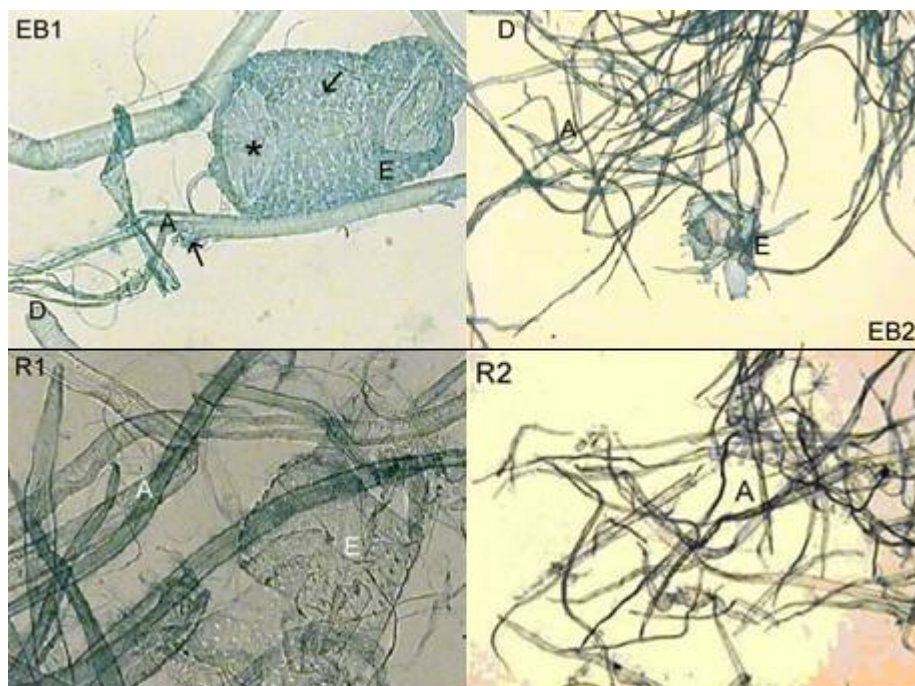


Figura 2. Observações ao microscópio óptico das pastas: EB1 – Pasta de Eucalipto branqueada, ampliação 20x; A – Fibra com parede desfibrilada (seta); D – Célula de parênquima E – Elemento de vaso com pontuações evidentes na parede (seta) e perfuração simples (*). EB2 – Pasta de Eucalipto branqueada, ampliação 10x, A – Fibras; D – Célula de parênquima; E – Elemento de vaso partido. R1 – Pasta de papel Reciclado, ampliação 20x; A – Fibra; E – Elemento de vaso partido. R2 – Reciclado ampliação 4x.

De uma maneira geral, os vários ensaios de envelhecimento proporcionaram um aumento da cor das folhas laboratoriais. Depois de sujeita ao tratamento enzimático, a pasta de eucalipto mostrou ser mais resistente ao envelhecimento (Quadro 3). Nas folhas obtidas com a pasta de eucalipto o ensaio de envelhecimento que proporcionou um maior aumento na cor, ou seja um maior envelhecimento, foi o de variação de temperatura mantendo constante a humidade relativa (ensaio 2). Neste ensaio, tanto para a pasta sem tratamento como para a que foi sujeita ao tratamento enzimático, o valor do amarelecimento aumentou para o dobro, enquanto que o grau de brancura diminuiu cerca de 3 pontos percentuais. No ensaio sequencial (3 a, b, c) pode observar-se que a enzima promoveu um efeito inibidor ao evitar um maior aumento do amarelecimento do papel. O mesmo já não acontece no caso do grau de brancura, onde a redução deste é de 4 % nas folhas com tratamento e de 6 % nas folhas sem tratamento.

Quadro 3. Valores das propriedades ópticas para as folhas de pasta de eucalipto sujeitas aos vários ensaios de envelhecimento. E – Folhas sem tratamento enzimático; E_E – folhas com tratamento enzimático

	Folhas	Propriedades ópticas				
		Amarelecimento (%)	°B (%)	L*	a*	b*
Controlo (folhas não sujeitas a acção de envelhecimento)	E	4	90	97	0	2
	E _E	3	91	97	0	2
Ensaio 1 (T = 25 °C; Hr =(60, 80 e 100 %)	E	4	91	97	0	2
	E _E	3	91	97	0	2
Ensaio 2 (T = 60, 70 e 80 °C; Hr = 50 %)	E	8	86	97	0	5
	E _E	6	87	97	0	3
Ensaio 3a Radiação Ultravioleta	E	4	86	95	0	2
	E _E	2	89	96	0	1
Ensaio 3b (T = 19 °C;Hr = 70 %)	E	5	86	95	0	2
	E _E	3	89	96	0	1
Ensaio 3c Nevoeiro Salino	E	6	84	95	0	3
	E _E	4	87	96	0	2

No caso das folhas de papel reciclado (Quadro 4) o ensaio de radiação ultravioleta foi o que causou um maior aumento de cor nas folhas sem tratamento enzimático, onde o amarelecimento aumentou de -2 para 28 %. A acção do tratamento enzimático foi mais visível no ensaio de variação de temperatura, onde as folhas de papel reciclado mantiveram o valor de 16 %, isto é não ocorreu amarelecimento.

Quadro 4. Valores das propriedades ópticas para as folhas de pasta de papel reciclado sujeitas aos vários ensaios de envelhecimento R – Folhas sem tratamento enzimático; R_E – folhas com tratamento enzimático.

	Folhas	Propriedades ópticas				
		Amarelecimento (%)	°B (%)	L*	a*	b*
Controlo (folhas não sujeitas a acção de envelhecimento)	R	-2	90	95	2	-2
	R _E	16	71	92	2	7
Ensaio 1 (T = 25 °C; Hr =(60, 80 e 100 %)	R	-1	89	95	2	-1
	R _E	13	75	92	2	6
Ensaio 2 (T = 60, 70 e 80 °C; Hr = 50 %)	R	4	84	94	1	2
	R _E	16	72	92	1	8
Ensaio 3a Radiação Ultravioleta	R	28	60	90	1	14
	R _E	27	63	91	1	14
Ensaio 3b (T = 19 °C;Hr = 70 %)	R	31	57	89	2	15
	R _E	29	60	90	2	15

Relativamente ao grau de brancura, o ensaio 3 foi o que proporcionou maiores reduções de brancura, passando este parâmetro de 90 % para 57 % (redução de 36 %) no caso das folhas controlo. Nas folhas com tratamento enzimático a redução de brancura foi de apenas 15%, revelando-se a laccase eficiente para diminuir o efeito negativo do envelhecimento.

O Quadro 5 mostra os valores das propriedades físico-mecânicas das folhas de pasta de eucalipto sujeitas aos vários ensaios de envelhecimento. Em geral, as folhas de pasta de eucalipto sem tratamento enzimático apresentam valores superiores quer de índice de tracção quer de índice de rebentamento. No ensaio de variação de temperatura, as folhas com tratamento apresentam uma redução de cerca de 56 % no índice de rebentamento enquanto que o índice de tracção aumentou em qualquer destes ensaios, tendo sido este aumento mais evidente no ensaio 1, para as folhas sem tratamento, passando de 12,4 para 38,6 N·m·g⁻¹.

Quadro 5. Valores das propriedades físico-mecânicas para as folhas de pasta de eucalipto sujeitas aos vários ensaios de envelhecimento.

	Folhas	Propriedades Físico-mecânicas		
		Índice de tracção (N·m·g ⁻¹)	Alongamento (%)	Índice de rebentamento (Kpa·m ² ·g ⁻¹)
Controlo (folhas não sujeitas a acção de envelhecimento)	E	12,4	0,60	0,41
	E _E	10,5	0,80	0,93
Ensaio 1 (T = 25 °C; Hr =(60, 80 e 100 %)	E	38,6	2,30	2,42
	E _E	13,1	0,60	0,71
Ensaio 2 (T = 60, 70 e 80 °C; Hr = 50 %)	E	37,5	1,80	2,12
	E _E	15,1	0,50	0,41

No Quadro 6 encontram-se os valores das propriedades físico-mecânicas para as folhas de papel reciclado sujeitas às condições de envelhecimento. Da sua análise verifica-se que quer as folhas com tratamento enzimático quer as folhas sem tratamento apresentam aumentos de índice de tracção em qualquer dos ensaios de envelhecimento (passando 23 para cerca de 37 N·m·g⁻¹). A variação o índice de rebentamento também foi menor.

Quadro 6 Valores das propriedades físico-mecânicas para as folhas de pasta de papel reciclado sujeitas aos vários ensaios de envelhecimento.

	Folhas	Propriedades Físico-mecânicas		
		Índice de tracção (N·m·g ⁻¹)	Alongamento (%)	Índice de rebentamento (Kpa·m ² ·g ⁻¹)
Controlo (folhas não sujeitas a acção de envelhecimento)	R	24,0	2,70	2,92
	R _E	23,4	2,40	2,18
Ensaio 1 (T = 25 °C; Hr =(60, 80 e 100 %)	R	38,1	3,50	2,81
	R _E	32,1	3,10	2,37
Ensaio 2 (T = 60, 70 e 80 °C; Hr = 50 %)	R	37,9	2,60	2,45
	R _E	32,4	2,20	2,03

Em estudos de envelhecimento efectuados por Soler (1999) submetendo vários papeis a 80°C, humidade relativa de 65 % e às escuras durante 6 a 24 dias, obtiveram-se aumentos da carga de rotura ao fim de 12 dias, mas no fim do ensaio o valor obtido foi inferior ao inicial. Comparativamente aos valores obtidos neste trabalho, em geral os valores de índice de tracção também aumentaram em todos os ensaios de envelhecimento, o que vai de encontro

ao obtido por Soler. No entanto, como o período de envelhecimento foi de apenas duas semanas, não houve tempo para confirmar a redução do índice de tracção para tempos de tratamento mais longos.

Nos Quadros 7 e 8 encontram-se os valores das propriedades químicas das folhas de pasta de eucalipto e de papel reciclado, respectivamente. A viscosidade diminuiu em qualquer ensaio de envelhecimento e o índice Kappa manteve-se constante em qualquer dos ensaios já referidos. No caso das folhas de eucalipto, o efeito na diminuição da viscosidade foi maior para o ensaio de radiação, ocorrendo uma redução de 27 % e o mesmo ocorreu nas folhas com tratamento enzimático. Para as folhas de papel reciclado, a variação de viscosidade é de 7 % nas folhas com tratamento enzimático e de 3 % nas folhas não tratadas. Assim a aplicação da enzima não se mostrou significativo no evitar da degradação da celulose.

Quadro 7. Valores das propriedades químicas para as folhas de pasta de eucalipto sujeitas aos vários ensaios de envelhecimento.

Envelhecimento	Folhas	Propriedades Químicas	
		Viscosidade (ml.g ⁻¹)	Índice Kappa
Controlo (folhas não sujeitas a acção de envelhecimento)	E	1011	1
	E _E	919	1
Ensaio 1 (T = 25 °C; Hr =(60, 80 e 100 %)	E	965	1
	E _E	902	1
Ensaio 2 (T = 60, 70 e 80 °C; Hr = 50 %)	E	917	1
	E _E	893	1
Ensaio 3a Radiação Ultravioleta	E	743	-
	E _E	690	-

Quadro 8 Valores das propriedades químicas para as folhas de pasta de papel reciclado sujeitas aos vários ensaios de envelhecimento.

Envelhecimento	Folhas	Propriedades Químicas	
		Viscosidade (ml.g ⁻¹)	Índice Kappa
Controlo (folhas não sujeitas a acção de envelhecimento)	R	710	14
	R _E	664	13
Ensaio 1 (T = 25 °C; Hr =(60, 80 e 100 %)	R	691	14
	R _E	686	13
Ensaio 2 (T = 60, 70 e 80 °C; Hr = 50 %)	R	660	14
	R _E	646	13

Conclusões

O envelhecimento que mais afectou as propriedades cromáticas foi a radiação ultravioleta, tendo sido as folhas de papel reciclado as que mais amareleceram.

O tratamento enzimático apesar de não retardar o amarelecimento, permitiu a obtenção de valores de amarelecimento inferiores aos obtidos pelas folhas sem tratamento.

Agradecimentos

À Fundação para a Ciência e Tecnologia, pelo financiamento do projecto de investigação POCTI/AGR/47309/02, “BIOMOD: Modificação enzimática em fibras de *E. globulus*”, pertencente ao Programa: Praxis/POCTI. Às indústrias de produção de pasta e papel: Grupo Portucel Soporcel e Renova S.A., pela cedência das pastas. Ao Instituto José Figueiredo pela

disponibilidade de aparelhos para o estudo do envelhecimento acelerado e pelo apoio dado ao longo da realização dos ensaios.

Bibliografia

Carter, H. A. (1996) The chemistry of paper preservation, Parte 2. Yellowing of paper and conservation bleaching, *Journal of Chemical Education*, 73 (11), 1068-1073.

Danilas, R. (1988), Branqueamento de pastas celulósicas, 427-509. In, SENAI, Celulose e papel. Tecnologia de fabricação da pasta celulósica, 2ª edição, Vol. I, Instituto de pesquisas tecnológicas do Estado de S. Paulo, S. Paulo, 559 pp.

Durovié, M., Zelinger, J. (1993), Restaurator, 14, 78-101. In, Carter, H. A. (1996). The chemistry of paper preservation, Parte 2. Yellowing of paper and conservation bleaching, *Journal of Chemical Education*, 73 (11), 1068-1073.

Soler, J., Colom, J. F. (1999), Durabilidad de los papeles reciclados, In Curso visión actual de las tecnologías relacionadas com el destintado del papel, Espanha.